



①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 196 22 359 A 1**

⑤1 Int. Cl.⁶:
G 02 B 21/00
G 02 B 6/42
G 02 B 6/34

⑳ Aktenzeichen: 196 22 359.8
㉔ Anmeldetag: 4. 6. 96
㉔ Offenlegungstag: 11. 12. 97

DE 196 22 359 A 1

㉔1 Anmelder:
Carl Zeiss Jena GmbH, 07745 Jena, DE

㉔2 Erfinder:
Simon, Ulrich, Dr., 07743 Jena, DE

⑤4 Vorrichtung zur Einkopplung der Strahlung von Kurzpulslasern in einem mikroskopischen Strahlengang

⑤7 Vorrichtung zur Einkopplung von der Strahlung von Kurzpuls-Lasern in einen mikroskopischen Strahlengang, wobei die Einkopplung mittels mindestens einer dem Laser nachgeordneten Lichtleitfaser, vorzugsweise in einem konfokalen Strahlengang erfolgt und das Faserende auf ein Objekt abgebildet wird und zwischen Laser und Lichtleitfaser eine optische Anordnung zur wellenlängenabhängigen zeitlichen Veränderung der Laserpulse vorgesehen ist.

DE 196 22 359 A 1

Die Erfindung betrifft die Einkopplung der Strahlung eines KurzpulsLasers in einen konfokalen mikroskopischen Strahlengang, vorzugsweise in die optische Anordnung eines Laser — Scanningmikroskopes.

Der Einsatz von KurzpulsLasern ist aus US 5034613 bei der "Zwei — Photonen Laser Mikroskopie" bekannt. Aus US 5161053 ist es an sich bekannt, das Licht einer Laserlichtquelle über Lichtleitfasern in einen konfokalen Abtaststrahlengang einzukoppeln.

Üblicherweise erleiden kurze Pulse beim Durchlaufen dispersiver Medien aufgrund des Phänomens der Gruppengeschwindigkeits-Dispersion (GVD: group velocity dispersion) eine Verlängerung ihrer Pulsdauer.

Zudem können im Medium, aufgrund der mit den kurzen Pulsen einhergehenden hohen Pulsspitzenleistungen und Intensitäten, nicht-lineare optische Phänomene, wie z. B. Selbst-Phasenmodulation, Brillouinstreuung, Ramanstreuung, etc., die die spektrale Zusammensetzung der kurzen Pulse beeinflussen, praktisch relevant werden.

Erfinderische Aufgabe ist daher eine vorteilhafte Einkopplung von KurzpulsLasern, beispielsweise bei der Zwei-Photonen Mikroskopie, in den konfokalen Strahlengang.

Die Aufgabe wird durch die Merkmale des Anspruchs 1 gelöst. Bevorzugte Weiterbildungen sind Gegenstand der abhängigen Ansprüche.

Die Erfindung betrifft insbesondere die Einkopplung von Kurzpuls-Lasern (Picosekunden bis Femtosekunden-Pulsdauern) in ein Laser-Scanning Mikroskop mit Hilfe von Lichtleitfasern.

Hierdurch ist der Einsatz von Kurzpuls-Lasern als Anregungsquelle, vorzugsweise in der 2-Photonen-Mikroskopie und der zeit- und orts aufgelösten Mikroskopie, möglich, wobei diesen Techniken alle Vorteile der Faserkopplung, wie z. B. hohe Flexibilität im optischen Aufbau, hohe Laser-Strahlrichtungsstabilität und gute Laserstrahlqualität, insbesondere bei Kopplung in Monomode-Fasersysteme, zugute kommen.

Durch die Erfindung werden die Pulse vorteilhaft vor dem Eintritt in die Lichtleitfaser derartig präpariert, daß Pulsform und Pulslänge in der zu untersuchenden Probe derjenigen am Laserausgang praktisch entspricht. Dadurch lassen sich die Vorteile des Einsatzes kurzer Pulse sowie des Einsatzes von Lichtleitfasern kombinieren. Um den Laufzeitunterschieden der verschiedenen spektralen Anteile der kurzen Pulse durch die vorhanden dispersiven Medien (inklusive der Lichtleitfaser) entgegenzuwirken, wird eine optische Vorrichtung eingesetzt, die die GVD und die Dispersion höherer Ordnung des gesamten optischen Systems kompensieren kann.

Diese Vorrichtung soll den langsameren spektralen Anteilen der kurzen Pulse mittels für diese Anteile wirksamer verkürzter optischer Wege, einen zeitlichen Vorsprung einräumen. Die technische Realisierung dieser Vorrichtung kann, wie im Ausführungsbeispiel dargestellt, Prismen- oder Gitteranordnungen, oder Kombinationen beider sowie Kombinationen mit reflektierenden Elementen, enthalten. Den kurzen Pulsen wird damit, vor dem Eintritt in die Lichtleitfaser, ein hinreichendes Maß negativer GVD aufgeprägt, so daß sie nach Durchlaufen der Faser und des übrigen optischen Systems in der Probe ihre Original-Pulsform wiedererlangen. Durch die mit Hilfe einer geeigneten "Prechirping-Unit" den Pulsen aufgeprägte negative GVD am Eingang der Lichtleitfaser, werden die kurzen Pulse so

stark zeitlich verbreitert, daß die Pulsspitzenleistungen und Intensitäten innerhalb der Lichtleitfaser unterhalb den, für das Auftreten von nichtlinearen Phänomenen kritischen Werten liegen.

Dadurch wird gewährleistet, daß die kurzen Pulse beim Durchlaufen der Lichtleitfaser zwar ihre zeitliche Form, nicht jedoch ihre spektrale Zusammensetzung verändern.

Die in "Laser- Spektroskopie" von W. Demtröder, Springer-Verlag 1991, S. 418 ff, bei der optischen Puls-kompression beschriebene "Selbstphasen-Modulation" tritt daher vorteilhaft nicht auf.

Insbesondere beim Einsatz von Monomode-Lichtleitfasern kann, aufgrund der Wirkung der Faser als räumliches Filter, das räumliche Strahlprofil der Laserstrahlung in der Probe gegenüber demjenigen am Laserausgang des Anregungslasers verbessert werden.

Dies ist insbesondere bei Techniken wie der 2-Photonen-Mikroskopie von Vorteil, da gute Fokussierbarkeit des Anregungsstrahls und die daraus folgende hohe 2-Photonen-Anregungswahrscheinlichkeit ein sauberes Laserstrahlprofil zwingend erfordern.

Durch dieselbe Lichtleitfaser, die zur Übertragung der kurzen Pulse eingesetzt wird, können gleichzeitig auch andere Laser in das Laser-Scanning Mikroskop eingekoppelt werden. Damit kann der gleiche Objektpunkt mit mehreren Lasern, simultan oder zeitlich hintereinander, bestrahlt werden. Der Einsatz von Monomode-Lichtleitfasern oder von Multimode-Lichtleitfasern in Verbindung mit anschließender beugungsbegrenzter Fokussierung durch eine Blende zur räumlichen Filterung des Anregungslaser-Strahlprofils in Verbindung mit Kurzpuls-Lasern gestattet eine bessere Fokussierbarkeit des Anregungslaserstrahls und damit eine höhere räumliche Auflösung bzw. auch 2-Photonen-Anregungswahrscheinlichkeit.

Es wird eine Verbesserung der Strahlrichtungskonstanz in Verbindung mit KurzpulsLasern erreicht. Dies erlaubt insbesondere das Optimieren des im allgemeinen komplexen und justier-intensiven Kurzpuls-Lasers, ohne daß eine Nachjustage des Laser-Scanning Mikroskops erforderlich wird.

Nach Optimieren des Kurzpuls-Lasers ist lediglich die Kopplungseffizienz in die Lichtleitfaser zu maximieren, der Strahlverlauf innerhalb des Mikroskops bleibt jedoch unverändert.

Die Erfindung wird nachstehend anhand der schematischen Zeichnungen näher erläutert.

Es zeigen:

Fig. 1 Die Einkopplung über mehrere Gitter;

Fig. 2 Die Einkopplung über mehrere Prismen;

Fig. 3 Die Einkopplung über Gitter und Prismen.

In Fig. 1 gelangt das Licht einer Kurzpuls-Laserlichtquelle 1, die beispielsweise ein Titan-Saphirlaser mit Pulsdauern in einer Größenordnung von etwa 100 fs sein kann, in eine hier aus vier Gittern 2.1, 2.2, 2.3, 2.4 bestehende "Prechirping Unit" PU 2. Ein Einzelimpuls I ist beispielhaft dargestellt. Durch die wellenlängenabhängige Beugung am ersten Gitter 2.1, nach Kollimierung am Gitter 2.2 sowie der Wiederherstellung der Strahlverhältnisse bezüglich Strahldurchmesser und Parallelität durch die Gitter 2.3, 2.4 erhält der blaue Lichtanteil einen zeitlichen Vorsprung bezüglich des roten Lichtanteils.

Die hierdurch zeitlich verbreiterten Laserpulse I' gelangen über ein Einkoppelement 3 und eine Monomodefaser 4 in den Strahlengang eines konfokalen Scanningmikroskopes 5, hier schematisch angedeutet durch

die Darstellung einer Auskoppeloptik 5.1 mit pinhole 5.2, teildurchlässigem Spiegel 5.3, einer X/Y-Scanning-Unit 5.4, Abbildungsoptik 5.5, Probe 5.6, Abbildungsoptik 5.7, pinhole 5.8 sowie Detektor 5.9.

In Fig. 2 sind anstelle der Gitter 2.1–2.4 in der PU 2 vier Prismen 6.1, 6.2, 6.3, 6.4 vorgesehen, die eine zu den Gittern 2.1–2.4 analoge spektrale Aufspaltung mit anschließender Kollimierung und Strahlvereinigung bewirken.

Statt der hier vorgesehenen jeweils vier Gitter oder Prismen kann auch eine hier nicht dargestellte Anordnung aus jeweils nur zwei Gittern oder Prismen sowie einem Spiegel gewählt werden, der eine Rückführung des Strahlverlaufs nach Reflexion am Spiegel und somit ein zweifaches Durchlaufen der Gitter- oder Prismenkombination bewirkt.

Durch den Einsatz mehrerer Spiegel kann weiterhin auch ein mehrfaches Durchlaufen der PU 2 bewirkt werden.

In Fig. 3 wird der zu erzielende Effekt durch die Kombination einer aus Prismen 7.1–7.4 bestehenden PU 7 mit einer aus Gittern 8.1–8.4 bestehenden PU 8 noch verstärkt.

Hier können insbesondere, wie bei der optischen Pulskompression beschrieben ("Laser- Spektroskopie" von W. Demtröder, Springer-Verlag 1991, S. 418 ff), auch Dispersionseffekte höherer Ordnungen ausgeglichen werden.

Durch eine in Fig. 1 und 2 schematisch dargestellte Vergrößerung des Abstandes zwischen den Gittern 2.1, 2.4 einerseits sowie 2.2, 2.3 andererseits, bzw. den Prismen 6.1, 6.4 einerseits sowie 6.2, 6.3 andererseits, durch Verschiebung der Elemente 2.2; 2.3 bzw. 6.2; 6.3 entlang der dargestellten Pfeilrichtung, werden die spektralen Wegunterschiede einstellbar vergrößert bzw. durch Verkleinerung des Abstandes verkleinert. Beispielhaft ist hier gestrichelt jeweils eine zweite Stellung der Gitter bzw. Prismen 2.2; 2.3; 6.2; 6.3 dargestellt.

Damit ist eine Einstellung der Impulsbreite möglich, so daß nicht nur die von der Lichtleitfaser bewirkten Laufzeitunterschiede kompensierbar sind, sondern darüber hinaus Laufzeitunterschiede gezielt ausgeglichen werden können, die durch weitere dispersive Medien, insbesondere im Strahlengang des konfokalen Mikroskopes, wie beispielsweise Objektive, insbesondere mit hoher numerischer Apertur, das Scanobjektiv, die Tubulinse, aber auch andere aus Glas bestehende optische Elemente, verursacht werden.

Die Verschiebung der Gitter oder Prismen entlang der dargestellten Pfeilrichtung kann durch hier nicht dargestellte, aber fachübliche und bekannte Maßnahmen, per Hand oder elektrisch angesteuert, erfolgen.

Patentansprüche

1. Vorrichtung zur Einkopplung der Strahlung von Kurzpuls-Lasern in einen mikroskopischen Strahlengang wobei die Einkopplung mittels mindestens einer dem Laser nachgeordneten Lichtleitfaser erfolgt.

2. Vorrichtung nach Anspruch 1, wobei die Einkopplung in einen konfokalen Strahlengang erfolgt und das Faserende auf ein Objekt abgebildet wird.

3. Vorrichtung nach Anspruch 2, wobei das Mikroskop ein Laserscanningmikroskop ist.

4. Vorrichtung nach mindestens einem der vorangehenden Ansprüche wobei die Einkopplung über mindestens eine Monomodefaser erfolgt.

5. Vorrichtung nach mindestens einem der vorangehenden Ansprüche, wobei zwischen Laser und Lichtleitfaser eine optische Anordnung zur wellenlängenabhängigen zeitlichen Veränderung der Laserpulse vorgesehen ist.

6. Vorrichtung nach mindestens einem der vorangehenden Ansprüche, wobei die optische Anordnung aus mindestens zwei Prismen besteht.

7. Vorrichtung nach mindestens einem der vorangehenden Ansprüche wobei die optische Anordnung aus mindestens zwei Gittern besteht.

8. Vorrichtung nach mindestens einem der vorangehenden Ansprüche wobei die optische Anordnung aus einer Prismen/Gitterkombination besteht.

9. Vorrichtung nach mindestens einem der vorangehenden Ansprüche wobei die optische Anordnung aus vier Prismen oder Gittern besteht.

10. Vorrichtung nach mindestens einem der vorangehenden Ansprüche wobei die Prismen oder Gitter mit Spiegeln kombiniert sind.

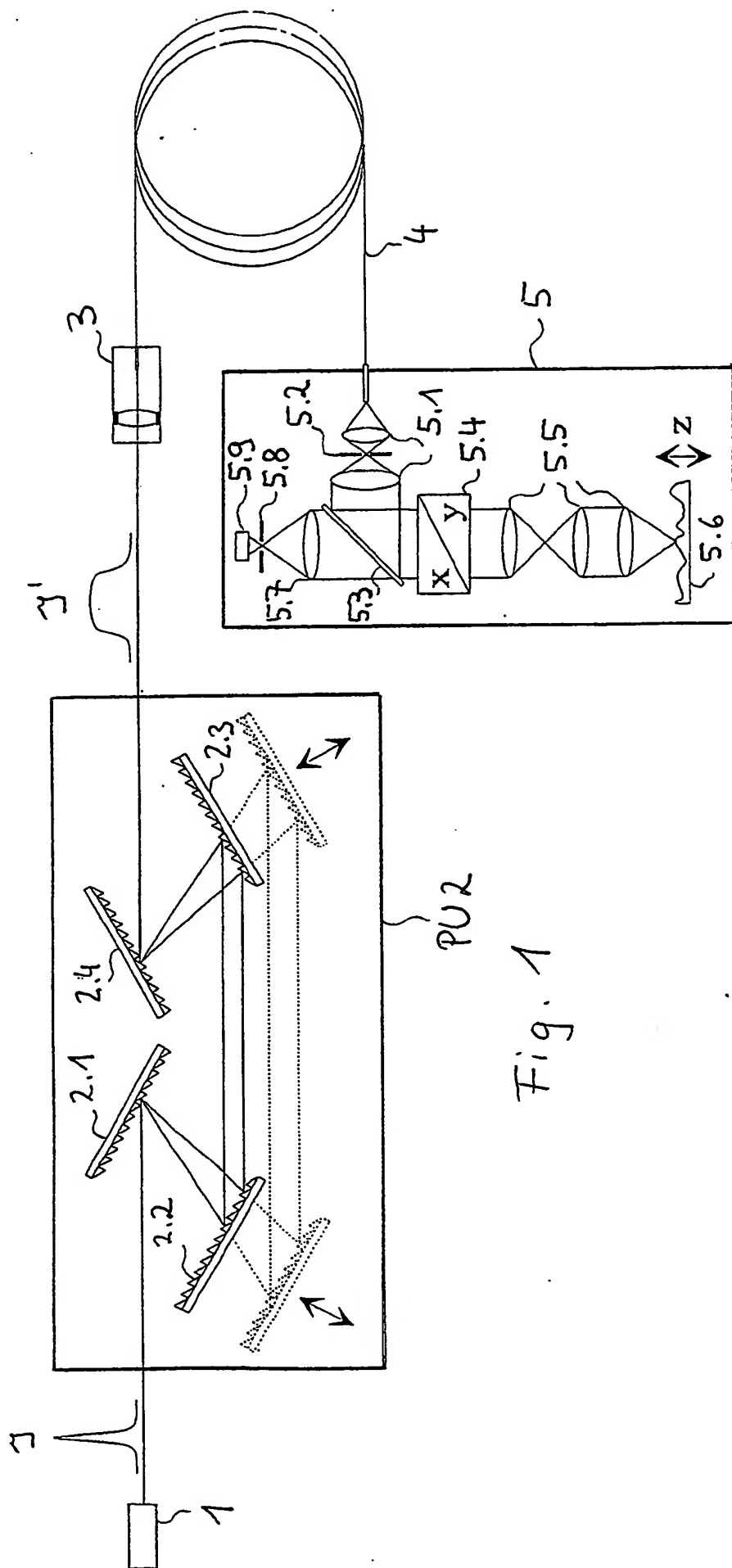
11. Vorrichtung nach mindestens einem der vorangehenden Ansprüche wobei der zeitliche Unterschied unterschiedlicher Wellenlängen der Laserpulse mittels der optischen Anordnung einstellbar ist.

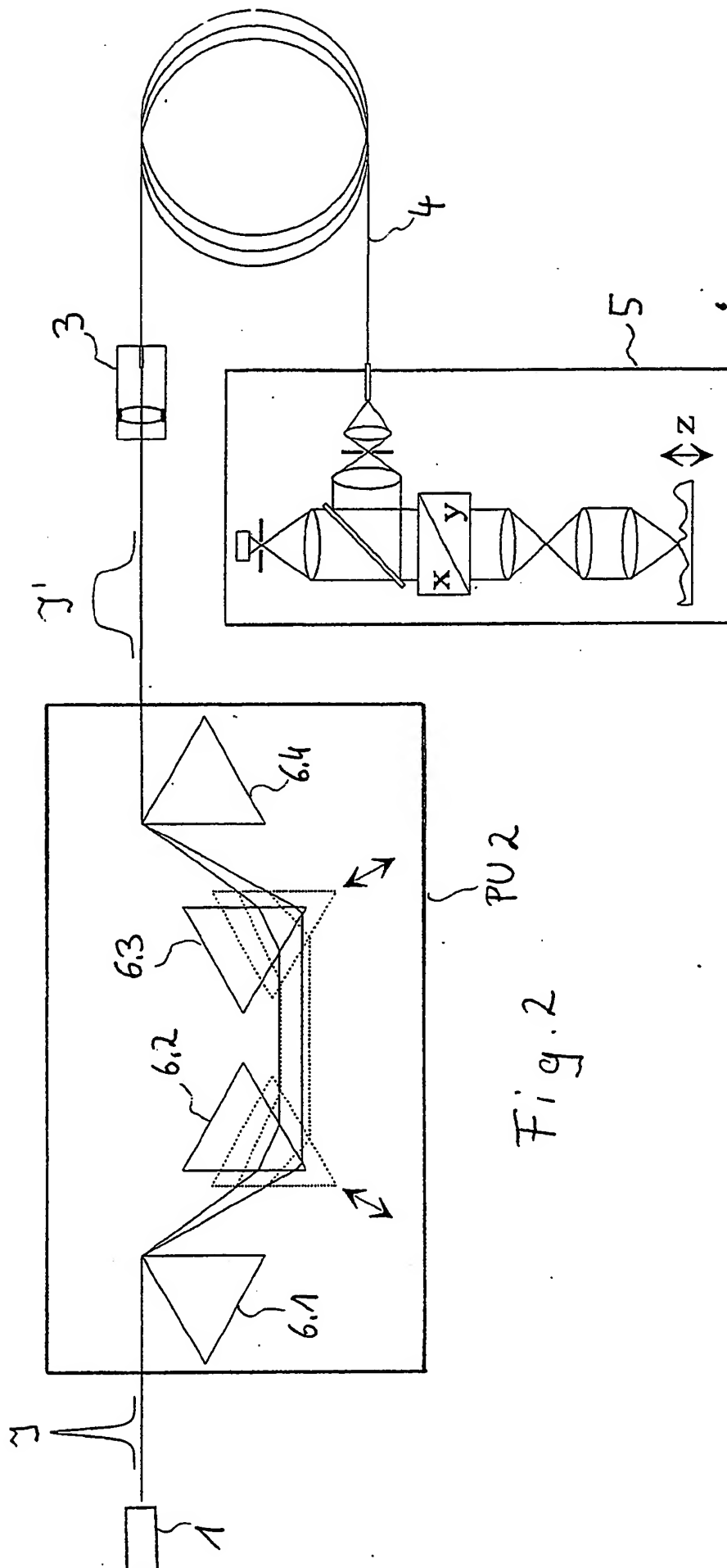
12. Vorrichtung nach Anspruch 11, wobei der Abstand zwischen den Elementen der optischen Anordnung einstellbar ist.

13. Vorrichtung nach Anspruch 12 wobei der Abstand zwischen den Prismen oder Spiegeln der optischen Anordnung einstellbar ist.

14. Vorrichtung nach mindestens einem der vorangehenden Ansprüche, wobei über die Lichtleitfaser, gleichzeitig oder zeitlich versetzt, neben der Kurzpulsstrahlung das Licht weiterer Laserlichtquellen eingekoppelt wird.

Hierzu 3 Seite(n) Zeichnungen





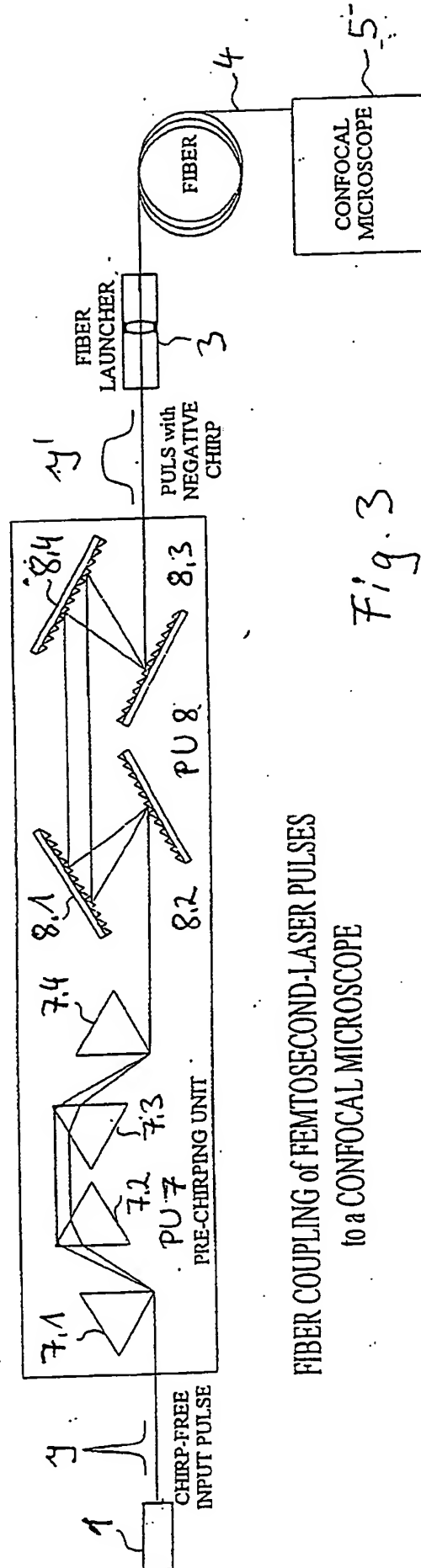


Fig. 3

FIBER COUPLING OF FEMTOSECOND-LASER PULSES
to a CONFOCAL MICROSCOPE